

Tricine-SDS-PAGE凝胶配制试剂盒

产品货号: 15195

产品规格: 30T/150T

产品简介:

聚丙烯酰胺凝胶电泳 (Sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gelelectrophoresis SDS-PAGE) 原理在于聚丙烯酰胺凝胶为网状结构, 具有分子筛效应。它有两种形式: 非变性聚丙烯酰胺凝胶及 SDS-聚丙烯酰胺凝胶; 非变性聚丙烯酰胺凝胶, 在电泳的过程中, 蛋白质能够保持完整状态, 并依据蛋白质的分子量大小、蛋白质的形状及其所附带的电荷量而逐渐呈梯度分开, 主要用于分离蛋白质和寡核苷酸。常规 SDS-PAGE 凝胶电泳适用于分离大分子蛋白, 对于小分子量的蛋白或多肽, 分辨率大大降低。

尚宝生物 Tricine-SDS-PAGE电泳能够较好的分离10KD以下的蛋白或多肽, 是电泳法分离多肽的主要方法, 30T一般可以配制30~35块胶, 具体配制的量应根据器具大小决定。电泳分离后可直接考马斯亮蓝染色、银染等。

产品组成:

名称	30T	保存条件
试剂(A): 49.5%T 3%C	20ml	4℃
试剂(B): 49.5%T 6%C	60ml	4℃
试剂(C): Gel buffer	90ml	4℃
试剂(D): Glycerol	20ml	室温
试剂(E): Ammonium Persulfate	0.3g	室温
试剂(F): TEMED	2×1ml	4℃, 避光

操作步骤(仅供参考):

1. 配制10%过硫酸铵(APS): 直接在0.3g Ammonium Persulfate中加入3ml蒸馏水, 充分溶解, 分装成小份储存于-20℃或4℃。注意: 一般用1.5ml EP管分装成0.5-1ml每支, -20℃保存, 每支使用2-3次即弃用。短期使用时, 可保存于4℃, 1周有效。
2. 根据目的蛋白分子量大小选择合适的凝胶浓度, 按照附表配制分离胶:
 - ①将不同体积的蒸馏水、49.5%T 6%C、Gel buffer、Glycerol加入到离心管中充分混合。
 - ②加入10%APS和TEMED, 立即涡旋混匀5~10s, 以使溶液充分混匀。
 - ③在凝胶模具中迅速灌入适量分离胶溶液(1mm mini-gel, 分离胶溶液加约4ml), 然后在分离胶溶液上轻轻覆盖一层1~3cm的水层, 使凝胶表面保持平整。
 - ④静置, 待分离胶和水层之间出现一个清晰的界面表示凝胶已聚合。
3. 根据目的蛋白分子量大小选择合适的凝胶浓度, 按照附表配制夹层胶:
 - ①去除覆盖在分离胶上的水层, 用滤纸将残留的水尽量吸去。
 - ②将不同体积的蒸馏水、49.5%T 3%C和Gel buffer加入到离心管中混合。
 - ③加入10%APS和TEMED, 立即涡旋混匀5~10s, 以使溶液充分混匀。
 - ④将适量的夹层胶溶液迅速加至分离胶的上面(对于1mm的mini-gel, 夹层胶溶液加约1ml), 然后在夹层胶溶液上轻轻覆盖一层1~2cm的水层, 使凝胶表面保持平整。
 - ⑤静置, 待夹层胶和水层之间出现一个清晰的界面表示凝胶已聚合。



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司
Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址: 上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话: 400-611-0007 13671551480

Q Q: 807961520

邮箱: saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com

4. 根据目的蛋白分子量大小选择合适的凝胶浓度，按照附表配制浓缩胶：

- ①去除覆盖在夹层胶上的水层，用滤纸将残留的水吸去。
- ②将不同体积的双蒸水、49.5%T 3%C和Gel buffer加入到离心管中混合。
- ③加入10%APS和TEMED，立即涡旋混匀5~10s，以使溶液充分混匀。
- ④将梳子插入凝胶内，避免产生气泡。
- ⑤静置，待凝胶聚合后，小心地拔出梳子，避免破坏加样孔。进行电泳操作。

5. 电泳

将电泳槽置于4℃或冰水浴中，外槽加入阳极缓冲液，内槽加入阴极缓冲液，30V预电泳10min，将处理好的样品加入点样孔，30V电泳1h，100V电泳至溴酚蓝到达胶底部后停止电泳，进行后续的考马斯亮蓝染色或电转。

附表 Tricine-SDS-PAGE 凝胶配方表

成份	分离胶			夹层胶	浓缩胶
	20%/4.5ml	16.5%/4.5ml	15.5%/4.5ml		
浓度/体积	20%/4.5ml	16.5%/4.5ml	15.5%/4.5ml	10%/2ml	10%/2ml
49.5%T 3%C	—	—	—	0.407ml	0.16ml
49.5%T 6%C	1.82ml	1.5ml	1.395ml	—	—
Gel buffer	1.5ml	1.5ml	1.5ml	0.667ml	0.496ml
Glycerol	0.48ml	0.48ml	0.48ml	—	—
蒸馏水	0.7ml	1.02ml	1.125ml	0.926ml	1.344ml
10%APS	40 μl	40 μl	40 μl	20 μl	20 μl
TEMED	5 μl	5 μl	5 μl	3 μl	3 μl

注意事项：

1. 过硫酸铵配制成10%APS溶液后应当-20℃保存，用2~3次，亦可4℃保存几天。
2. TEMED易挥发，使用后请盖紧瓶盖。另外凝胶凝聚的速度和温度及光照关系密切。可通过适当调节TEMED的用量，控制在不同的室内环境下凝胶凝聚的速度。
3. 配制聚丙烯凝胶的过程中，如果室温较低，可以置于37℃放置，加速凝固。在液体混匀的时候应尽量避免气泡的产生。
4. 在分离胶上层加蒸馏水时要缓慢，速度不宜过快。
5. 49.5%T 3%C 和 49.5%T 6%C为不同比例的Acr-Bis，有轻微神经毒性，请小心操作。

有效期：6个月有效。



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司
 Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址：上海市徐汇区龙华路2518弄14号
 电话：400-611-0007 13671551480
 Q Q：807961520
 邮箱：saintbio@126.com
<http://www.saint-bio.com>